DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.11.018

CAC CAT CTC TTC-3′，经人工合成修饰后，利用脂质体Lipofectin介导来转染人肺癌A549细胞。本研究首先对转染程序进行了优化筛选，确定了转染的最佳时限是8～10 h，脂质体用量为5.0 ml/L时可将0.34 μmol/L的ANG反义核酸成功的转染入肿瘤细胞中，并且非常有效的抑制ANG蛋白的表达与分泌。转染组与对照组相比较，免疫组化显示前者细胞内ANG蛋白表达明显减少，ELISA分析培养基中ANG蛋白分泌量也是前者较后者显著降低。证明了人ANG反义核酸可有效封闭肿瘤细胞中ANG蛋白的表达与分泌。目前研究发现，肿瘤相关的致血管生成因子种类较多，如VEGF，bFGF等，因此，联合应用针对各种不同致血管生成因子设计的反义核酸可能更大程度，更有效的拮抗肿瘤诱导的血管生成。

参考文献：

[1] Fett J W, Strydom D J, Lobb R R, *et al*. Isolation and characterization of angiogenin, an angiogenic protein from human carcinoma cells[J]. Biochemistry, 1985, 24(20): 5 480－5 486.
[2] Moenner M, Gusse M, Hatzi E, *et al*. The widespread expression of angiogenin in different human cells suggests a biological function not only related to angiogenesis[J]. Eur J Biochem, 1994, 226(2): 483－490
[3] Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors[J]. Science, 1987, 235(4 787): 442－447
[4] Choprav, Dinh T V, Hannigan E V. Serum levels of interlukins, growth factors and angiogenin in patients with endometrial cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 1997, 123(3): 167－172
[5] Karen A O, James W F, Thayer C F. Angiogenin antagonists prevent tumor growth *in vivo*[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92(2): 442－446

（编辑 张 宁）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2002)11-1292-02

Rh新生儿溶血病换血治疗1例

A case report of exchange blood for treating Rh hemolytic disease of newborn

何 静[1]，陈方祥[1]，马贵山[1]，罗 梅[1]，李华强[2]（第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所：[1]输血科；[2]小儿科，重庆 400042）

我院于2000年11月2日检测到1例高胆红素血症患儿，为母婴Rh血型不合，产生抗D抗体，效价为64，经换血治疗痊愈出院，现报告如下。

1 病例摘要

产妇余某某，女，27岁，于2000年11月1日在重庆市某医院经剖腹产娩出一子，1 min及5 min Apgar评分为10分，出生体重为3 650 g，羊水清亮，脐带及胎盘正常。当晚皮肤黄染，且进行性加重。前来我院就诊。妊娠史，孕2产0剖1，1999年人工流产1次。未做产前抗体监测。

患儿余某之子新生儿，2000年11月1日21:51入我院儿科，查体T 36.8 ℃，脉搏112次/min，呼吸44次/min，发育正常。新生儿溶血病三项实验阳性，血清抗D效价为64，总胆红素391 μmol/L，间接胆红素381.85 μmol/L，血常规：WBC 19.6×10^9/L，RBC 2.98×10^{12}/L，Hb 112 g/L，HCT 0.3，PLT 223×10^9/L。11月2日，总胆红素增加到509.14 μmol/L，Hb降至92 g/L，RBC减少到2.5×10^{12}/L，Hct 0.264，经专家会诊，诊断明确，需立即换血治疗。1月3日22:30入手术室行换血手术。剪开脐静脉扎结线，行脐静脉插管，插管顺利，反复缓慢抽取患儿血液10～21.5 ml，注入相近量A型Rh阴性血液，其中间断注入生理盐水、肝素（生理盐水100 ml，加入肝素3万单位ml），术中换出血液326 ml，注入Rh阴性血液317 ml，患儿心率维持在132～148次/min，心音有力，分别在换血前、换血200 ml及换血完毕留取血标本，做血清学及胆红素检查。1:14时手术结束，结扎脐带，局部消毒后，安全返回病房。

2 实验室检查

患儿A型CcDE、产妇余某血型A ccddE、其丈夫血型A CcDE。患儿直接抗人球蛋白实验4+。患儿血清及RBC释放液（56 ℃热放散）、母亲血清与谱细胞反应结果详见表1。

表1 患儿与母血清抗体鉴定

谱细胞	与患儿血清反应			与患儿RBC释放液反应			与母亲血清反应		
	酶	37 ℃盐水	抗人球	酶	37 ℃盐水	抗人球	酶	37 ℃盐水	抗人球
CCDee	4+	0	4+	4+	0	4+	4+	0	4+
CcDE	4+	0	4+	4+	0	4+	4+	0	4+
Ccddee	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CcddE	0	0	0	0	0	0	0	0	0
自身细胞	0	0	0	0	0	0	0	0	0

（下转1298页）

作者简介：何 静（1964－），女，湖南省长沙市人，主管技师，主要从事输血前检验、血液成分和自体输血临床应用方面的研究，发表论文5篇。电话：(023)68757634
收稿日期：2001-07-16；修回日期：2002-01-08

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

究,首先应建立稳定的动物模型。文献[4~6]中提供了多种引起口腔溃疡的方法,但化疗药物引起口腔溃疡的动物模型研究尚属空白。化疗引起粘膜损伤的最常见药物有MTX、阿霉素(Adr)、氟尿嘧啶(5-Fu)等,而MTX是血液学科常用药物中最易引起口腔粘膜损伤的药物,因此选择了MTX作为本实验的化疗药物,同时选择了昆明种小白鼠作为实验动物。根据临床经验我们对小鼠采用了MTX小、中、大剂量的分组法。从试验可以看出MTX中剂量组的口腔粘膜损伤病变率及积分率均较其它组高,但死亡率很低;大剂量组的口腔粘膜损伤病变率高,且死亡率也较高。在探索口腔粘膜损伤动物模型时,需要在使用MTX后出现较多口腔粘膜损伤的同时动物存活率较高(即死亡率较低),因此我们认为MTX中剂量组最适合建立化疗致口腔粘膜损伤动物模型,而MTX大剂量不适合作为动物模型。建立一种动物模型应遵循具有与人类疾病的相似性、重复性、可靠性、适用性、可控性、易行性的原则[7]。本实验经腹腔注射MTX建立化疗后口腔粘膜损伤动物模型的方法与临床很接近,具有一定的代表性。

在临床上预防中、大剂量MTX致粘膜损伤,常规使用亚叶酸钙(CF)解救治疗,其机制是直接避开MTX的作用,为正常细胞DNA合成提供原料,防止粘膜损伤的形成。国内亦用长效核黄素解救的措施。CF解救这一途径,至今在解救时机上尚未统一,如果过早过多地应用CF解救MTX的不良反应,也一定程度地减轻了MTX对肿瘤细胞的细胞毒作用。在一些研究中局部应用CF不能有效阻止口腔粘膜炎的发生。而长效核黄素解救这一途径,至今也未正式推广。其它抗肿瘤药物治疗恶性肿瘤时,至今没有防治粘膜损伤的特效药物。rhGM-CSF是恶性肿瘤化疗过程中常用的一种集落刺激因子,主要作用是加快中性粒细胞的恢复,减少感染的并发症。人与小鼠GM-CSF同源性有54%,其增强子的同源性有76%[8,9]。从本实验的结果中显示早期预防使用rhGM-CSF不仅能减少动物死亡,还能减少口腔炎症及溃疡的形成,减轻溃疡严重程度。本实验还显示MTX_{40}+CF+GM_0、MTX_{40}+GM_0和MTX_{40}+CF组的口腔粘膜损伤病变率相近,说明在这个剂量组中rhGM-CSF与CF具有相似的预防口腔粘膜损伤的作用,rhGM-CSF与CF也具有一定的协同作用。因此,rhGM-CSF治疗化疗致口腔粘膜炎症或溃疡可能成为最有前途且疗效显著的方法之一,其作用机制有待进一步的研究。

参考文献:

[1] Buzby J S, Lee S M, van-Winkle P, *et al*. Increased granulocyte macrophage colony stimulating factor mRNA instability in cord versus adult mononuclear cells is translation-dependent and associated with increased levels of A + U-rich element binding factor[J]. Blood, 1996, 88(8): 2889—2897.
[2] 陈新谦,金有豫. 新编药物学[M]. 第14版. 北京:人民卫生出版社, 2001.12
[3] Da-Costa R M, Aniceto C, Jesus F M, *et al*. Quick healing of leg ulcers after molgramostim[J]. Lancet, 1994, 344(8920): 481—482.
[4] 陈谦明,李秉琦,萧卓然. 氧自由基对口腔粘膜损伤的动物实验研究——动物模型的建立[J]. 华西口腔医学杂志, 1993, 11(1): 63—64.
[5] 洪占春,郑广娟,高苏堤,等. 溃疡红药抗口腔溃疡药理研究[J]. 时珍国医国药, 1998, 9(6): 523—524.
[6] 熊风琴,李善华,王 遒,等. 口腔溃疡药膜对豚鼠实验性口腔溃疡的治疗作用[J]. 现代口腔医学杂志, 1997, 11(4): 259—260.
[7] 孙敬方. 动物实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2001.11
[8] 陈 滨,吴秋茜,倪道明. GM-CSF基因的表达调节[J]. 国外医学:分子生物学分册, 1997, 19(6): 254—257.
[9] 王 昕,吴克复. 巨噬细胞集落刺激因子及其受体的研究进展[J]. 国外医学:输血及血液学分册, 1996, 19(5): 272—275.

(编辑 张 宁)

(上接1292页)

3 讨论

Rh系统HDN是由于母婴Rh血型不合所致。Rh免疫抗体作用于胎儿红细胞造成的高胆红素血症,此病只能由人类红细胞作为抗原刺激产生Rh免疫抗体,故极少发生在第一胎,除非以前有输血史或流产史[1]。该产妇血型为Rh阴性,于1999年行人工流产一次,此次妊娠刺激母体已致敏的淋巴细胞,引起免疫性回忆反应,产生足够的抗D,导致抗体效价迅速上升,达到64。当抗体效价达到1∶32~1∶64时,胎儿红细胞容易受到破坏,造成溶血。该患儿血清胆红素进行性升高,出生后第2天总胆红素已高达583 μmol/L(参考范围3~23 μmol/L),高于正常值25倍多,血红蛋白持续下降至92 g/L,符合换血指征,选择与母亲Rh血型相合的血液换血。

在患儿出生后第3天即行换血术,我们对换血前血样及换出的血样作梯度检测,换血前直接抗球蛋白实验为3+,换血200 ml时即为1+,术后当天及术后4 d查直接抗球蛋白实验均为阴性。另换血前抗D效价为1∶64,换血术后1 d抗D效价1∶2。换血前后相比总胆红素和直接胆红素及间接胆红素均明显降低。其间给予蓝光照射,输用白蛋白,药物等治疗措施,以促进间接胆红素结合氧化分解水溶性物质排出体外,患儿于术后第6天出院,出院当天检测抗D为0,患儿皮肤无黄染,精神正常,食欲好,轻度贫血。医嘱给予口服惠血佳,一月后复查均正常。

关键词:新生儿溶血病;换血
中图法分类号:R725.556.205 文献标识码:B

参考文献:

[1] 肖星甫. 输血技术手册[M]. 成都:四川科学技术出版社, 1992.308—309.

(编辑 陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net